

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FERNANDO ALVES SOARES RAMOS

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO ÚTERO DE ÉGUAS UTILIZANDO O
LAVADO DA COLETA DE EMBRIÕES**

UBERLÂNDIA

2025

FERNANDO ALVES SOARES RAMOS

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO ÚTERO DE ÉGUAS UTILIZANDO O
LAVADO DA COLETA DE EMBRIÕES**

Dissertação apresentada a Faculdade de
Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito
parcial à aprovação no Mestrado.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientadora: Profa. Dra. Elisa Sant'Anna
Monteiro da Silva

UBERLÂNDIA

2025

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

R175 Ramos, Fernando Alves Soares, 1992-
2025 Isolamento de bactérias do útero de éguas utilizando o lavado de alto volume associado ao procedimento de recuperação embrionária [recurso eletrônico] / Fernando Alves Soares Ramos. - 2025.

Orientador: Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ciências Veterinárias.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2025.27>
Inclui bibliografia.

1. Veterinária. I. Silva, Elisa Sant'Anna Monteiro da, 1985-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias

BR 050, Km 78, Campus Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 2512-6811 - www.ppgcv.famev.ufu.br - mesvet@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências Veterinárias				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico PPGCVET Nº 03/2025				
Data:	30 de janeiro de 2025	Hora de início:	08:30	Hora de encerramento:	11:10
Matrícula do Discente:	12312MEV010				
Nome do Discente:	Fernando Alves Soares Ramos				
Título do Trabalho:	Isolamento de bactérias do útero de éguas utilizando o lavado da coleta de embriões				
Área de concentração:	Produção Animal				
Linha de pesquisa:	Biotécnicas e Eficiência Reprodutiva				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Técnicas laboratoriais e moleculares na reprodução animal				

Reuniu-se por videoconferência na Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: Professores Doutores: Dra. Roberta Torres de Melo - (UFU/FMVZ); Dr. Julio Cesar Ferraz Jacob - (UFRRJ) e Dra. Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva - (UFU/FMVZ) orientadora do candidato.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir a senhora presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o candidato. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o candidato:

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Elisa Sant'anna Monteiro da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/01/2025, às 11:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Roberta Torres de Melo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/01/2025, às 11:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Julio Cesar Ferraz Jacob, Usuário Externo**, em 04/02/2025, às 16:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6037150** e o código CRC **83A9068E**.

FERNANDO ALVES SOARES RAMOS

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO ÚTERO DE ÉGUAS UTILIZANDO O
LAVADO DA COLETA DE EMBRIÕES**

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito parcial à aprovação no
Mestrado.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientadora: Profa. Dra. Elisa Sant’Anna Monteiro da
Silva

Uberlândia, 30 de janeiro de 2025.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Elisa Sant’Anna Monteiro da Silva – Orientadora
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Profa. Dra. Roberta Torres de Melo – Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Prof. Dr. Julio Cesar Ferraz Jacob – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha esposa Maria Isabel e minha família pelo suporte, ajuda e carinho durante esta caminhada nos últimos 2 anos.

Aos colegas Arthur e Isabela por me ajudarem na realização desse trabalho.

Gostaria de expressar minha mais profunda gratidão à Prof^a Bia pelo apoio inestimável, ajuda e paciência durante a realização desta dissertação. Sua generosidade ao disponibilizar o laboratório para a condução do projeto foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a minha orientadora Elisa, com profunda gratidão e admiração. Ao longo destes dois anos, sua orientação, paciência e apoio foram fundamentais para o desenvolvimento deste projeto. Seu conhecimento, dedicação e ajuda constante me permitiram superar desafios e alcançar meus objetivos acadêmicos e pessoais. Muito obrigado!

RESUMO

Endometrite tem sido apontada como a causa mais comum de infertilidade e subfertilidade em equinos, e a do tipo infecciosa, tem se mostrado recorrente em programas de transferência de embriões. Existem diferentes técnicas para diagnóstico desta alteração uterina, como uso de aparelho de swab, citologia e biópsia uterinas. A técnica do lavado uterino de baixo volume (BV) tem se tornado alternativa para um bom diagnóstico, pois, a partir dele conseguimos amostras para realizar cultura e citologia. Recentemente o lavado uterino com alto volume (AV) foi relatado como alternativa por entrar em maior contato com a superfície uterina. Portanto o objetivo desse trabalho foi associar o método de lavado uterino com alto volume (AV) a técnica de lavado de embriões em éguas doadoras, para isolar bactérias e caracterizar os isolados quanto a espécie e a resistência aos antimicrobianos, comparando seus resultados a técnica de lavado com BV nos mesmos animais. Foram utilizadas 28 éguas doadoras de embriões que foram submetidas as técnicas de AV (1L) e BV (250ml) com Ringer Lactato. As amostras recuperadas foram utilizadas para os exames de cultura e citologia. Os resultados foram analisados utilizando o Teste exato de Fisher. Como resultado foi demonstrado uma eficácia semelhante entre as técnicas de ambos os grupos, AV e BV para isolamento bacteriano. Quando analisado se a presença de embrião influenciou a presença ou não de bactérias, no exame de cultura, não houve diferença entre os grupos ($P>0,05$). Na análise de citologia somente 4 exames (7,14%), 1 no AV (1,78%) e 3 (5,36%) no BV, apresentaram neutrófilos. Dos grupos AV e BV foram isoladas 38 bactérias diferentes, das quais 18 (47,36%) apresentavam multirresistência a antimicrobianos. Portanto, a técnica de AV associado ao lavado de embriões pode ser uma alternativa para isolamentos de bactérias para realização de exames de cultura, auxiliando no diagnóstico de éguas subférteis.

Palavras-chave: Endometrite; lavado com baixo volume; lavado com alto volume; citologia uterina; microbiologia.

ABSTRACT

Endometritis is the most common cause of infertility and subfertility in mares. The infectious type has been shown to be recurrent in embryo transfer programs. There are different tests for diagnosing this uterine alteration, such as culture and uterine cytology. Techniques like uterine lavage have become an alternative for diagnosis, as it allows to obtain samples for cytology and culture. Recently, the use of high-volume uterine lavage has been demonstrated as an alternative for diagnosing endometritis. Therefore, this study aims to associate the high volume lavage (HVL) with the embryo flushing technique in donor mares, to isolate and characterize bacteria in terms of species and antimicrobial resistance, comparing the results with the low volume lavage (LVL) lavage technique in the same animals. In this project, 28 mares participated and were subjected to both HVL and LVL techniques. The recovered samples were used for cytology and culture tests. Then, all data were computed, and statistical analyses were performed using Fisher's Exact Test to obtain a comparative result. The results demonstrated similar efficacy between the techniques of both groups, HVL and LVL for bacterial isolation. When analyzed the presence of an embryo influenced presence or absence of bacteria in the culture test, no difference was found between the groups. In the cytology analysis, only 4 tests (7.14%), 1 in HVL and 3 in LVL, showed neutrophils. From the HVL and LVL groups, 38 different bacteria were isolated, and 18 (47.36%) of them exhibited multidrug resistance. Therefore, the HVL technique combined with embryo flushing can be an alternative for bacterial isolation for cytology and culture tests, assisting in the diagnosis of sub fertile mares.

Key words: Endometritis; Low Volume Lavage; High Volume Lavage; Uterine Cytology; Microbiology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Painel ilustrativo do procedimento de coleta de embrião equino e obtenção de amostra na própria bolsa de ringer lactato.	14
Figura 2 -	Número de crescimento de culturas bacterianas encontradas por lavados uterinos de cada grupo. AV - Lavado uterino de alto volume. BV - Lavado uterino de baixo volume.	18
Figura 3 -	Espécies e números de bactérias encontradas no exame de cultura bacteriana de ambos grupos AV - Lavado uterino de alto volume e BV - Lavado uterino de baixo volume.	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Bactérias isoladas na técnica de lavado uterino de alto volume (AV) durante tentativa de recuperação embrionária associado com a presença ou não de embrião.	17
Tabela 2 -	Bactérias isoladas pela técnica de lavado uterino de baixo volume (BV).	17
Tabela 3 -	Classe dos antimicrobianos e resultado do teste antibiograma das 38 bactérias isoladas.	19

SUMÁRIO

1. Introdução	5
2. Revisão de literatura	6
2.1 Etiologia e Fisiopatologia da Endometrite.....	6
2.2 Técnicas para Diagnósticos da Endometrite.....	8
2.2.1 <i>Swab</i> Uterino.....	8
2.2.2 Escova Ginecológica.....	9
2.2.3 Cultura Microbiológica.....	10
2.2.4 Biópsia Uterina.....	10
2.2.6 Lavado Uterino com Baixo Volume.....	11
2.2.6 Lavado Uterino com Alto Volume.....	12
3. Material e métodos.....	13
3.1 Animais.....	13
3.2 Amostras de Lavados Uterinos... ..	13
3.3 Cultura Microbiológica.....	15
3.4 Citologia Uterina.....	15
3.5 Análise Estatística.....	15
4. Resultados.....	16
5. Discussão.....	20
6. Conclusão.....	22
REFERÊNCIAS.....	23

1. Introdução

A endometrite é uma das principais causas de infertilidade e subfertilidade em éguas (PÉREZ-MARIN et al., 2018; ALLEN; WILSHER; MORRIS et al., 2020). Esta alteração gera prejuízos à equinocultura e é considerada uma das três doenças que mais acometem equinos adultos (WEBER et al., 2021).

A endometrite pode ser classificada em caráter infeccioso e não infeccioso, apresentando-se sob formas agudas ou crônicas (PÉREZ-MARIN et al., 2018). Entre as endometrites infecciosas, contaminações causadas por *Streptococcus equi* são frequentemente relatadas, enquanto a endometrite persistente pós-cobertura é um exemplo recorrente de inflamação não infecciosa (CANISSO et al., 2020). Além disso, Sá et al. (2020) descrevem um caso de endometrite infecciosa aguda induzida por *Escherichia coli*, e Nunes et al. (2008) destacam que inflamações crônicas frequentemente resultam em alterações estruturais e sinais de fibrose no endométrio.

Existem sinais clínicos que facilitam o diagnóstico da afecção, como ciclos estrais anormais, secreção vaginal, presença de líquido intrauterino e edemas uterinos anormais (BRINSKO et al., 2003; RASMUSSEN et al., 2015). No entanto, existem as éguas subférteis, que não apresentam sinais clínicos e evidências de alterações uterinas, mas não apresentam resultados positivos na reprodução (LEBLANC et al., 2007). A subfertilidade pode ocorrer por vários fatores, como idade, má conformação do aparelho reprodutor feminino e qualidade ou excesso do espermatozoide durante a cobertura (CHRISTOFFERSEN e TROEDSSON; MARINONE et al., 2017).

Para os animais subférteis, existem diferentes meios que auxiliam no diagnóstico da endometrite subclínica, podendo-se associar um ou mais métodos (DIEL DE AMORIM et al., 2016). Os exames mais usados são cultura uterina e citologia, que podem ser obtidos por escova ginecológica, swab ou utilizando a técnica de lavado uterino; e/ou a histopatologia do útero, utilizando pinça de biópsia (DIEL DE AMORIM et al., 2016).

A técnica de lavado uterino tem se mostrado uma ferramenta valiosa no diagnóstico de endometrite em éguas, destacando-se por sua eficiência e praticidade (DIEL DE AMORIM et al., 2016; PÉREZ-MARIN et al., 2018). Uma das principais

vantagens é a capacidade de obter amostras representativas do conteúdo intrauterino e a utilização dessas amostras para realizar exames de cultura e citologia (LEBLANC et al., 2007). Existem métodos diferentes para os lavados uterinos: a de baixo volume, uma técnica já consagrada a campo e na literatura, onde utilizam-se volumes de 50 mL a 250 mL de solução (DIEL DE AMORIM et al., 2016). O outro método, chamado de alto volume, utiliza 1L de solução para o lavado uterino, em que se espera obter uma amostra mais representativa por ter maior contato com a superfície uterina quando comparado ao método de baixo volume (RAVAIOLI et al., 2022).

Sendo assim, o objetivo dessa pesquisa foi isolar e caracterizar bactérias obtidas a partir da técnica de lavado de alto volume associada com a tentativa de recuperação embrionária. Além disso, comparou-se a capacidade de isolamento da técnica de alto volume (AV) com a de baixo volume (BV), método padrão realizado durante a fase de estro em éguas. As bactérias isoladas de ambas as técnicas foram caracterizadas quanto à espécie e à resistência à ação antimicrobiana e verificou-se se há associação entre a presença delas e a ausência de embriões.

2. Revisao de literatura

2.1 Etiologia e Fisiopatologia da Endometrite

Éguas subférteis e inférteis são consideradas importantes limitações em um planejamento reprodutivo, sendo a endometrite a alteração uterina mais comumente relatada como causa dessas condições (ALLEN; WILSHER; MORRIS et al., 2020). Suas consequências são várias, desde a baixa recuperação embrionária até a morte precoce de embriões, ocasionando grande prejuízo financeiro (LEBLANC et al., 2007; PÉREZ-MARIN et al., 2018; MORRIS et al., 2020).

Pasolini (2016) classifica como éguas inférteis e subférteis aquelas que apresentam uma de três falhas: falhas em ter um ciclo estral regular; outras são éguas que ciclam normalmente, mas apresentam diagnóstico de gestação negativo; e, por último, aquelas que ciclam normalmente, se tornam gestantes, mas ocorre morte embrionária precoce. A endometrite é frequentemente relacionada às duas últimas categorias, e algumas dessas fêmeas têm sua capacidade reprodutiva afetada devido a fatores anatômicos, como, por exemplo, conformação vulvar indesejada, que pode ocasionar

pneumovagina e urovagina (CANISSO et al., 2020). Esses problemas anatômicos, associados à resposta imune afetada, podem levar ao desenvolvimento de endometrites (FUMUSO et al., 2003; CHRISTOFFERSEN et al., 2012).

Éguas em programas reprodutivos são inseminadas ou cobertas (SQUIRES, 2013), e após a introdução do sêmen no trato reprodutivo, ocorre uma inflamação fisiológica do endométrio, resultado da reação imunológica criada em resposta aos componentes do sêmen (LEBLANC ET AL., 1994). Normalmente, essa inflamação fisiológica se resolve em até 48h após a cobertura. Em animais em que a resposta inflamatória permanece por um período maior, tal processo inflamatório se torna exacerbado, podendo evoluir para endometrite infecciosa ou até fibrose endometrial (CHRISTOFFERSEN e TROEDSSON, 2017; CANISSO et al., 2020).

A endometrite pode ser classificada como infecciosa aguda, infecciosa crônica ou não infecciosa, sendo que as infecciosas podem ser subdivididas em fúngicas ou bacterianas (CHRISTOFFERSEN e TROEDSSON, 2017; SCOTT, 2020). A endometrite não infecciosa é caracterizada por uma inflamação que ocorre sem a presença direta de agentes patogênicos, sendo geralmente associada a fatores mecânicos, como urina, ar, sêmen, que causam um aumento de citocinas, quimiocinas e células do sistema imune, como macrófagos e linfócitos, levando a uma resposta exacerbada e inflamação do endométrio (LEBLANC et al., 2007; RIDDLE et al., 2007; CHRISTOFFERSEN et al., 2012). As formas infecciosas são caracterizadas por respostas inflamatórias semelhantes à forma não infecciosa, mas com a presença de um ou mais patógenos ocasionando o processo infeccioso (CANISSO et al., 2020).

Existem sinais clínicos que auxiliam na determinação de quais animais apresentam essa condição, como corrimento vaginal, ciclos estrais anormais, morte embrionária precoce, fluidos uterinos >2 cm detectados durante o estro na ultrassonografia, edemas uterinos exacerbados e falhas na concepção (Brinsko et al., 2003; Rasmussen et al., 2015; D'Agostino et al., 2022). No entanto, existem as éguas subférteis, que não apresentam sinais clínicos e evidências de alterações uterinas, mas que não apresentam resultados positivos na reprodução (CHRISTOFFERSEN e TROEDSSON, 2017), sendo casos mais desafiadores. Diferentes métodos diagnósticos foram desenvolvidos para auxiliar no diagnóstico dessas éguas.

2.2 Técnicas para Diagnósticos da Endometrite

O diagnóstico da endometrite é um dos maiores desafios encontrados na prática da reprodução equina (LEBLANC et al., 2007). Como existem animais que não apresentam sinais clínicos, esse atraso pode levar as éguas a agravarem seus sintomas (CADARIO, 2014). Portanto, torna-se crucial determinar o diagnóstico correto para estabelecer o tratamento mais indicado (MAISCHBERGER et al., 2008).

Históricos reprodutivos e exames como ultrassonografia são amplamente usados como métodos de diagnóstico para animais que apresentam endometrite clínica. Mas, para animais com endometrite subclínica, existem exames complementares que favorecem o diagnóstico (LEBLANC, 2003; BUCZKOWSKA et al., 2014). Os mais comumente usados são microbiologia, citologia e histopatologia (LEBLANC et al., 2007; DIEL DE AMORIM et al., 2016; PÉREZ-MARIN et al., 2018; MORRIS et al., 2020).

A biópsia endometrial é a técnica mais comum usada para obtenção de amostras teciduais para realização de histopatologia. Exemplos de métodos de obtenção de amostras para cultura bacteriana e citologia são através da escova ginecológica e por swab, respectivamente. Outra alternativa eficaz é através do lavado uterino, onde, com a solução recuperada, podem ser realizados tanto exames citológicos quanto de cultura (LEBLANC et al., 2007; DIEL DE AMORIM et al., 2016; PASOLINI et al., 2016; PÉREZ-MARIN et al., 2018; MORRIS et al., 2020).

2.2.1 *Swab* Uterino

Culturas bacterianas realizadas a partir de amostras obtidas de swabs são métodos mais comuns para o diagnóstico de endometrite, tanto clínica quanto subclínica (RIDDLE et al., 2007). Entretanto, o isolamento de bactérias uterinas não é, por si só, um diagnóstico de infecção, devendo ser avaliado em conjunto com outros sinais clínicos (RIDDLE et al., 2007; BUCZKOWSKA et al., 2014).

Segundo Dascanio (2021), as amostras são coletadas no estro da fêmea. A técnica é realizada com a introdução de um swab para contato com a parede do endométrio. Entretanto, por ter contato somente com uma área de 1 a 2 cm, os resultados desse método podem ser inconclusivos para infecções localizadas, além de haver a possibilidade de

contaminação cruzada com a vagina e vulva durante a retirada do swab (LEBLANC et al., 2007). Após a introdução, o swab deve ser retirado com cuidado para não haver contaminação na vagina e vulva, sendo guardado dentro de uma embalagem própria e refrigerado para prevenir o crescimento bacteriano até ser enviado ao laboratório (DASCANIO, 2021).

2.2.2 Escova Ginecológica

A técnica de escova ginecológica é utilizada para obtenção de amostras para realizar citologia uterina. Ela é realizada com a introdução via cervical para detecção de células polimorfonucleares (PMNs) no útero, o que indica a presença de inflamação (LEBLANC et al., 2007; PÉREZ-MARIN et al., 2018). Para ser realizada, é necessário coletar um número mínimo de células (LEBLANC et al., 2007; DIEL DE AMORIM et al., 2016; PÉREZ-MARIN et al., 2018; CANISSO et al., 2020; MORRIS et al., 2020).

A maioria das amostras é coletada durante o início e meio do estro (BROOK, 1993; LEY et al., 2002). Acredita-se que, durante essa fase, as defesas uterinas estão mais intensas, tornando mais provável encontrar neutrófilos e bactérias em pontos de contato com a escova (LEBLANC et al., 2007). Outra alternativa para obter amostra para citologia é a realização de uma lavagem uterina para maior contato com o útero quando comparado à escova ginecológica. Utiliza-se a técnica de lavagem, infundindo solução ringer lactato ou fisiológica, para obter uma amostra com maior contato com o endométrio (LEY et al., 2002; CARD, 2005; LEBLANC et al., 2007). Após a realização dessa técnica, centrifuga-se a amostra recolhida para preparar a citologia (LEBLANC et al., 2007).

Células epiteliais do endométrio são as mais comuns encontradas na citologia uterina, enquanto os neutrófilos predominam em casos de inflamações uterinas (LEBLANC et al., 2007). Eles são raramente encontrados em fêmeas saudáveis, e sua presença pode ser um sinal indicativo de endometrite, principalmente na forma subclínica (CARD, 2005).

Para classificar o nível de inflamação do endométrio, realiza-se a contagem dessas células polimorfonucleares por campo (LEBLANC et al., 2007). RIDDLE et al., (2007) classificam os animais como: sem inflamação quando apresentam PMNs <5%, com

inflamação moderada para PMNs >5% e <30%, e com inflamação severa para PMNs >30%, e, conforme Ferris et al., (2015), se não encontrar nenhum PMNs por campo, pode ser considerado normal; de 1-2 PMNs por campo é considerada uma inflamação leve; de 3-5, uma inflamação moderada, e >5 PMNs por campo é uma inflamação severa.

2.2.3 Cultura Microbiológica

Com amostras obtidas a partir das técnicas de lavado uterino ou swab, pode-se preparar as culturas (RIDDLE et al., 2007; PÉREZ-MARIN et al., 2018). Elas são feitas em placas com diferentes meios (PÉREZ-MARIN et al., 2018). Os meios utilizados variam de acordo com o tipo de microrganismo suspeito: meios seletivos para bactérias específicas, como MacConkey para Gram-negativas, ou meios enriquecidos, como o ágar sangue, para detectar um espectro mais amplo de bactérias. As culturas são incubadas em temperaturas controladas (geralmente entre 35 e 37 °C) e em atmosferas que podem variar entre aeróbicas, microaerofílicas ou anaeróbicas (RIDDLE et al., 2007; LEBLANC et al., 2007).

De acordo com Oliveira *et al.* (2025), para análise das placas que tiveram crescimento, de 1 a 10 culturas são consideradas de crescimento escasso (grau 1); de 11 a 100 são de crescimento moderado (grau 2); e mais de 100 culturas crescidas por placa são de crescimento abundante (grau 3). Essas culturas são determinantes para diagnóstico e precisão no tratamento, pois é possível determinar nesse teste se há resistência bacteriana (RIDDLE et al., 2007).

Culturas como a de *Escherichia coli*, por exemplo, não induzem grande inflamação uterina e aumento no número de neutrófilos, o que torna este exame essencial quando comparado à citologia para este tipo de bactéria, ao contrário do que ocorre com a *Streptococcus equii* (WEBER *et al.*, 2021). Portanto, esse é considerado um teste muito positivo para associação com outras técnicas de diagnóstico da endometrite (BUCZKOWSKA *et al.*, 2014; PÉREZ-MARIN *et al.*, 2018).

2.2.4 Biópsia Uterina

Considerada o padrão ouro para diagnosticar a endometrite, a análise histopatológica do endométrio realizada pela técnica de biópsia uterina pode ser muito relevante (DIEL DE AMORIM et al., 2016; CHRISTOFFERSEN e TROEDSSON,

2017). Esta técnica consiste na introdução de uma pinça via cervical até o lúmen uterino para coletar o fragmento (BUCZKOWSKA et al., 2014). Após a coleta do fragmento de endométrio, a pinça é retirada, e o fragmento é fixado, geralmente em formalina, depois as amostras são processadas, seccionadas e coradas para avaliação (PASOLINI et al., 2016).

Devido às mudanças no epitélio endometrial, possibilita a avaliação e o diagnóstico de patologias (LOVE, 2011). A grande vantagem da biópsia em relação às outras técnicas é a capacidade de avaliar não somente o epitélio, mas também camadas mais profundas (KENNEY, 1977).

Essa avaliação mais profunda permite determinar se há mudanças em vasos linfáticos, distensões glandulares, mudanças inadequadas para o momento do ciclo estral em que a égua se encontra (KENNEY, 1977), além de identificar pontos de fibrose, o que pode reduzir a capacidade reprodutiva daquele útero (PASOLINI et al., 2016 PÉREZ-MARIN et al., 2018).

Kenney (1978) classifica as mudanças uterinas encontradas pela biópsia em 3 categorias: a categoria 1, onde há poucas mudanças e o endométrio deve ser considerado normal; a categoria 3, com mudanças profundas e irreversíveis no útero, com baixas chances de gestação; e a categoria 2, que engloba as fêmeas entre as categorias 1 e 3, com algumas alterações no tecido uterino.

Embora essa técnica seja invasiva, com custo mais elevado e exija materiais e conhecimentos específicos em comparação a outros exames (DIEL DE AMORIM et al., 2016), ela é muito importante para determinar inflamações profundas e mudanças crônicas no endométrio. Além disso, apesar do diagnóstico ser mais demorado, ela oferece maior precisão (BROOK, 1993; PÉREZ-MARIN et al., 2018).

2.2.5 Lavado Uterino com Baixo Volume

Para LeBlanc et al., (2007) a técnica de lavado uterino utilizando baixo volume, ou seja, de 50 a 250 ml de solução ringer lactato ou salina, se mostra positiva, pois consegue associar resultados microbiológicos e citológicos do endométrio. Este método se baseia na introdução de solução através da cérvix, no útero, utilizando uma sonda de

silicone. Após a massagem uterina via transretal, o líquido é recuperado por gravidade para o frasco onde inicialmente estava contido.

Após a recuperação desse conteúdo, é feita a centrifugação e preparação do pellet formado para análises de cultura e citologia (PÉREZ-MARIN et al., 2018). Esta técnica tem se mostrado eficaz principalmente para detectar inflamações em éguas subfêrteis (LECTION et al., 2024). De acordo com Diel de Amorim et al., (2016) a vantagem da técnica de lavado uterino é a maior capacidade de avaliação do endométrio, em comparação a outras técnicas como citologia e cultura por swab, onde são realizadas em pontos focais.

2.2.6 Lavado Uterino com Alto Volume

Ravaioli et al., (2022) relatam que a realização do lavado uterino com alto volume, utilizando 1 a 2L de solução como ringer lactato ou salina, aumenta significativamente a chance de obter resultados expressivos de cultura microbiológica deste órgão, uma vez que é possível obter amostras mais representativas e apropriadas em comparação à técnica de baixo volume. Esse maior volume permite um maior contato com todo o endométrio da égua, em comparação ao de baixo volume, onde há menores chances de não haver contato com todas as extremidades. Recentemente, foi relatado o uso de lavado de alto volume (1L) para identificação de bactérias uterinas em 10 éguas com sinais clínicos para endometrite durante o estro (Silva et al., 2024).

Após a recuperação do conteúdo do lavado, este é deixado em repouso para decantação e depois separado em tubos para centrifugação. O pellet resultante da centrifugação pode ser usado tanto para citologia quanto para cultura bacteriana (RAVAIOLI et al., 2022). Portanto, esse método relatado recentemente se torna uma boa ferramenta de diagnóstico de endometrite, podendo ser associado a outras técnicas para maior chance de identificar animais subfêrteis.

3. Material e métodos

3.1 Animais

Foram utilizadas 28 éguas, com idade entre 4 e 18 anos, das raças Quarto de Milha e Mangalarga Marchador em atividade reprodutiva na região do Alto Paranaíba e Triângulo Mineiro – Minas Gerais, e que foram permitidos por seus proprietários através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido a participarem do projeto. Destes 28 animais, 5 (17,85%) apresentavam histórico positivo para endometrite. O projeto foi submetido para avaliação do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Uberlândia e, por se tratar de materiais biológicos que foram doados por médicos veterinários que trabalham rotineiramente com esses animais, não houve necessidade de apreciação e aprovação pela CEUA (parecer **78/2023**).

3.2 Amostras de Lavados Uterinos

Durante duas estações de montas, 2022/2023 e 2023/2024, as amostras de lavados uterinos foram colhidas por dois profissionais com experiência em diferentes propriedades, em dois momentos das mesmas éguas: durante a tentativa de recuperação embrionária, onde o primeiro litro recuperado de Ringer Lactato (RL) após a infusão foi chamado de lavado de alto volume (AV, n=28); e no início do estro subsequente; quando foi utilizado 250 mL de RL para realizar a coleta da amostra, caracterizando o lavado de baixo volume (BV).

Todos os animais foram colocados em um tronco de contenção, a região perineal foi previamente higienizada com sabão neutro e água, e secados com papel toalha. Foram utilizadas luvas de palpação invertidas para evitar contaminação. Para obtenção das amostras em ambos os grupos, foram utilizadas sondas para lavado uterino esterilizadas, que eram protegidas durante a inserção, sendo colocadas em contato somente com a cérvix para evitar contaminação pelo interior da vagina. A solução de ringer lactato foi infundida para dentro do útero, e após isso, era realizada massagem no útero através de palpação retal para maior contato do líquido com endométrio. Feito isso, foi recuperado a solução dentro da própria do RL, a exceção do grupo AV que possuía o

filtro estéril para recuperação embrionária antes da bolsa (Figura 1). O aspecto da solução recuperada quanto a sua característica foi anotado.

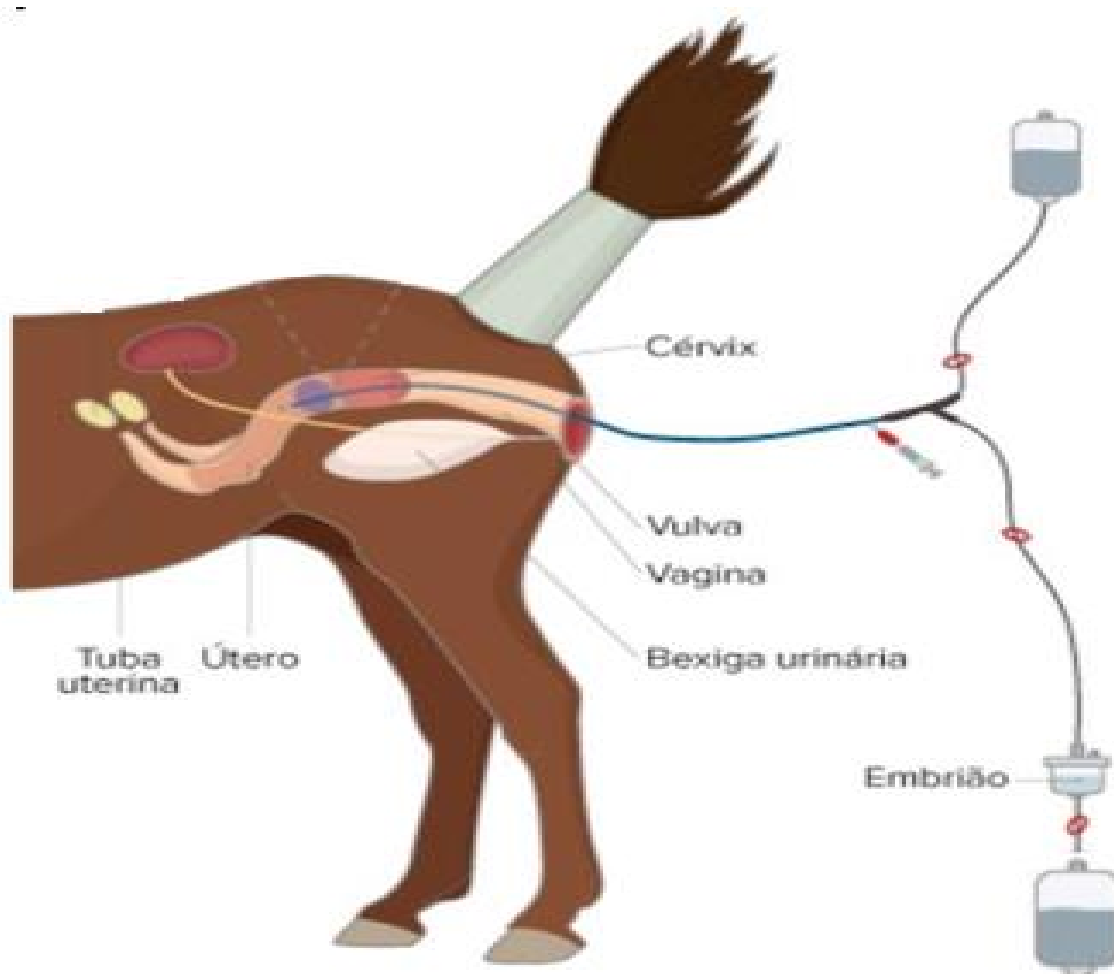


Figura 1: Painel ilustrativo do procedimento de coleta de embrião equino e obtenção de amostra na própria bolsa de ringer lactato. (Fonte: Adaptada de SILVA, E. S. M. Tecnologia de embriões em equinos, 2024)

Após a recuperação do conteúdo, todas as bolsas foram lacradas e armazenadas em caixas de isopor com gelo reciclável. Quando coletada as amostras na cidade de Uberlândia, foram enviadas no mesmo dia. Quando coletadas em outra cidade, as amostras foram refrigeradas a 5°C na geladeira e enviadas no prazo máximo de 24hrs após o lavado, para o Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LADOC-UFU).

No laboratório, 20 mls foram retirados através de uma seringa estéril para realizar centrifugação a 25°C a 5000rpm durante 10 minutos. Após isso foi descartado o sobrenadante e com um swab resgatava o pellet para ser feito a cultura. O restante do

conteúdo da bolsa de RL foi deixado para sedimentação, por no mínimo 1h, após isso foi retirado por volta de metade do conteúdo sobrenadante e o restante dividido entre tubos falcon estéreis de 50ml para serem centrifugados a 2250rpm por 10 minutos. Após isso todo o sobrenadante foi retirado, e com a solução final foi realizado a lâmina para exame citológico.

3.3 Cultura Microbiológica

As amostras após a centrifugação foram estriadas em caldo BHI (KASVI), em agitação e não agitação por 24 horas a 37 graus C. As amostras eram repicadas em ágar sangue e ágar MacConkey (KASVI), e deixadas para repouso em um período entre 24 a 36 horas em atmosfera de aerofilia e microaerofilia. As colônias que cresceram foram avaliadas e realizado um teste de Gram. Após isso as bactérias foram isoladas para fazer o antibiograma utilizando o ágar Muller Hinton, e posteriormente enviadas para identificação por MALDI-TOF pela Qualileite, laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de São Paulo, Campus de Pirassununga, SP.

3.4 Citologia Uterina

A partir das amostras obtidas dos pellets foi utilizado um swab estéril para coletar o conteúdo dos pellets e fazer o esfregaço em uma lâmina. Após isso a lâmina foi corada com panótico e analisada em microscópio com aumento 400x e 1000x com auxílio do óleo de imersão. Todas as amostras foram contadas 200 células, avaliando a proporção entre células endometriais, neutrófilos e outras células inflamatórias.

3.5 Análise Estatística

Os dados foram tabulados, inicialmente, em planilhas do programa Microsoft Excel® (Microsoft Office 365 Software, Redmond, WA, EUA). O programa estatístico GraphPad Prism 10 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA) foi utilizado para confecção dos gráficos e análise estatística dos dados utilizando o teste exato de FISHER. Foi utilizado um nível de significância $P < 0,05$.

4. Resultados

Foi observado que não houve diferença ($P>0,05$) entre AV e BV na ocorrência de culturas positivas ou negativas, mostrando distribuição semelhante dos eventos. Quando observado isolado por grupo se a presença ou ausência de embrião durante a técnica de lavado uterino para recuperação embrionária influenciava a ocorrência ou não de cultura positiva, no AV não houve diferença significativa ($P>0,05$) (Tabela 1).

Foi observado também no BV que a presença ou não de embrião durante o lavado do AV realizado previamente ($P>0,05$) não influenciava no crescimento bacteriano na cultura do baixo volume. Quando analisado se a presença de embrião influenciava a ocorrência de cultura bacteriana em algum dos grupos AV e BV juntos, mostrou que não houve diferença estatística ($P>0,05$), que a recuperação embrionária não impacta em ocorrência de crescimento bacteriano.

Em relação as culturas, foram observadas 13 culturas positivas (46,42%) no AV, com crescimento de 16 bactérias diferentes (Tabela 1). O BV, resultou em 15 culturas positivas (53,58%) com 22 bactérias diferentes (Tabela 2). No AV, em 10 culturas cresceu somente um tipo bactéria, enquanto em outras 3 culturas cresceram 2 tipos diferentes. No BV, 9 culturas tiveram crescimento de somente 1 tipo, enquanto 5 tiveram aparecimento de 2 culturas e 1 cultivo teve crescimento de três tipos de bactérias diferentes (Figura 2).

Tabela 1 – Bactérias isoladas na técnica de lavado uterino de alto volume (AV) durante tentativa de recuperação embrionária associado com a presença ou não de embrião.

Identificação	Presença de Embrião	Bactéria Isolada
Animal 1	Não	E. coli
Animal 3	Sim	Acinetobacter baumannii
Animal 4	Sim	E.coli
Animal 5	Não	E. coli
Animal 6	Sim	E. coli
Animal 10	Sim	Enterobacter cloacae
Animal 12	Não	Bacillus cereus
Animal 13	Não	E. coli
Animal 16	Sim	E. coli e Staphylococcus aureus
Animal 18	Não	Streptococcus equi
Animal 19	Sim	E.coli e não identificada
Animal 20	Sim	Citrobacter kosiri
Animal 23	Sim	Não identificada e não identificada
TOTAL: 13 Culturas	Sim (61,54%)	16 Bactérias
Positivas	Não (38,46%)	

Tabela 2 – Bactérias isoladas pela técnica de lavado uterino de baixo volume (BV).

Identificação	Bactéria Isolada
Animal 1	E. coli; Klebsiella pneumoniae; Actinobacillus equuli
Animal 5	E.coli e não identificada
Animal 8	E.coli
Animal 11	E. coli
Animal 12	Klebsiella aerogenes
Animal 13	Brevibacillus parabrevis e não identificada
Animal 14	E.coli e não identificada
Animal 15	E. coli e E. coli
Animal 17	Bacillus pumilus
Animal 19	E. coli e E. coli
Animal 20	Não identificada
Animal 21	Klebsiella aerogenes
Animal 22	Klebsiella pneumoniae
Animal 23	Não identificada
Animal 26	Não identificada
TOTAL: 15 Culturas	22 Bactérias
Positivas	

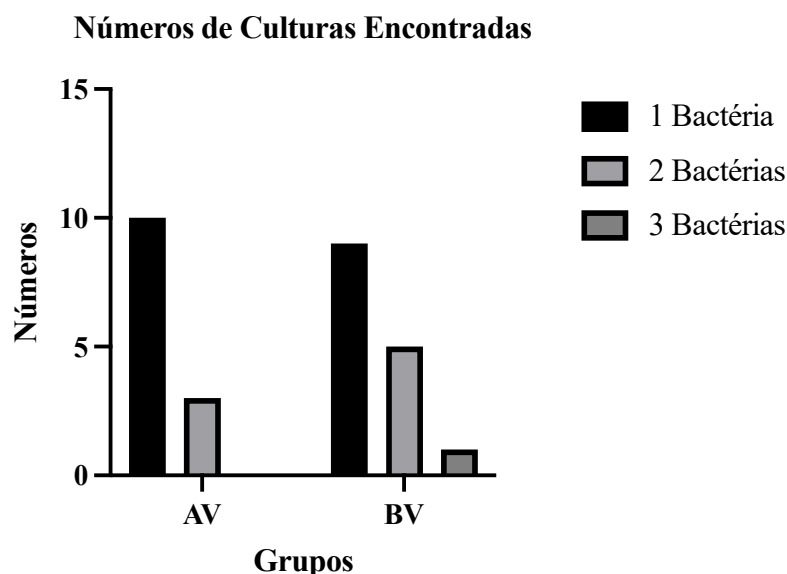


Figura 2 – Número de crescimento de culturas bacterianas encontradas por lavados uterinos de cada grupo. AV - Lavado uterino de alto volume. BV - Lavado uterino de baixo volume.

Observando as 38 bactérias identificadas e analisando sua capacidade de multirresistência, 18 bactérias (47,36%) apresentaram resistência a 3 classes diferentes de antimicrobianos, enquanto 20 bactérias (52,64%) não apresentaram essa característica. Quando comparado estaticamente se o AV ou BV apresentaram maior chance de encontro de uma bactéria com característica multirresistentes, observou que não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre os grupos.

Foram observadas 13 espécies diferentes de bactérias (Figura 3) com a *Escherichia coli* ocorrendo em maior predominância (42,10%). No exame de antibiograma (Tabela 3), foram testados 9 antibióticos provenientes de 6 classes diferentes nas 38 bactérias, a Amicacina, um aminoglicosídeo, foi o que apresentou maior sensibilidade (92,10%), seguido pela Enrofloxacina (86,84%) e o que mostrou maior resistência foi a Penicilina, que teve (21,05%) de sensibilidade.

Números

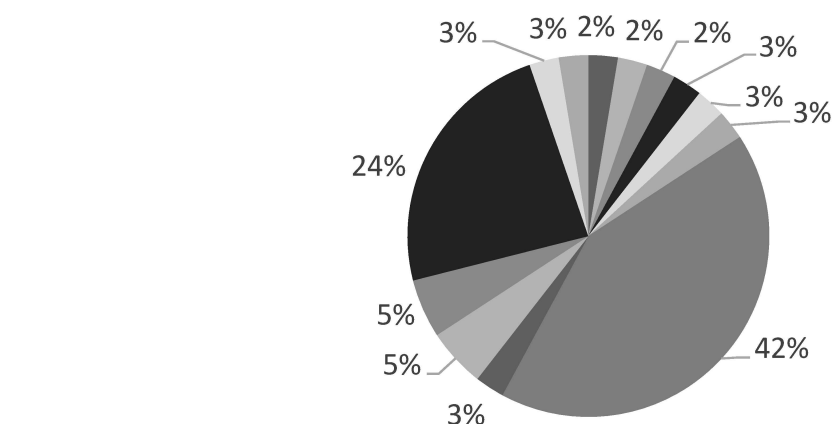
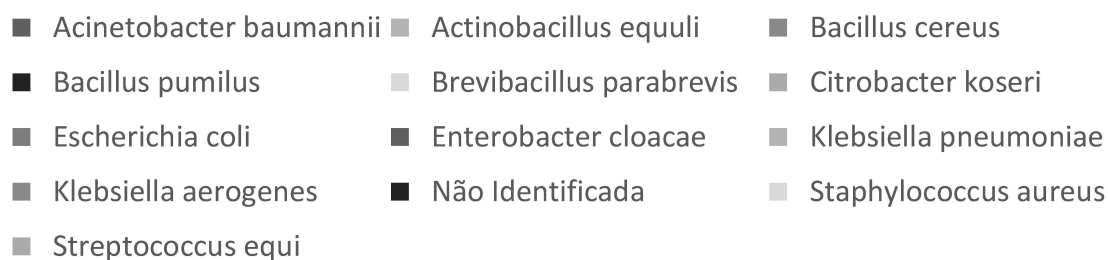


Figura 3: Espécies e números de bactérias encontradas no exame de cultura bacteriana de ambos grupos AV - Lavado uterino de alto volume e BV - Lavado uterino de baixo volume.

Tabela 3 - Classe dos antimicrobianos e resultado do teste antibiograma das 38 bactérias isoladas.

Classe	Aminoglicosídeos			Cefalosporinas	
Antimicrobiano	Amicacina	Estreptomicina	Gentamicina	Ceftiofur	Ceftriaxona
Sensibilidade	35 (92,10%)	21 (55,26%)	27 (71,05%)	21 (55,26%)	21 (55,26%)
Resistência	3 (7,90%)	17 (44,74%)	11 (28,95%)	17 (44,74%)	17 (44,74%)
TOTAL	38 (100%)	38 (100%)	38 (100%)	38 (100%)	38 (100%)

Classe	Fluroquinolona	β - Lactâmicos	Sulfonamidas	Tetraciclina
Antimicrobiano	Enrofloxacina	Penicilina	Sulfazotrim	Tetracilina
Sensibilidade	32 (86,84%)	7 (21,05%)	18 (47,36%)	25 (65,78%)
Resistência	6 (13,16%)	31 (78,95%)	20 (52,64%)	13 (34,22%)
TOTAL	38 (100%)	38 (100%)	38 (100%)	38 (100%)

Características como o aspecto do líquido recuperado após as técnicas de lavado uterino foi observado, onde no AV não apresentou nenhuma característica anormal, e no BV, um animal somente (3,57%) apresentou líquido turvo associado com presença de

conteúdo purulento, e com crescimento de 2 *E.coli* diferentes no exame de cultura. Em relação a citologia, somente um animal do AV (3,57%) apresentou neutrófilos, enquanto no BV, três animais (10,71%) apresentaram citologia positiva, e todos esses animais apresentaram crescimento de no mínimo uma cultura de *E.coli* no exame microbiológico.

5. Discussão

Os resultados do isolamento bacteriano sugerem um resultado abaixo do esperado para a técnica AV, que apresentou 13 culturas positivas (46,42%), contrastando com os valores mais elevados (79,74%) encontrados por Ravaoli et al., (2022) para a mesma técnica. Por outro lado, o grupo BV demonstrou um percentual similar ao AV de culturas positivas (53,58%), embora ainda inferior aos 70% relatados por LeBlanc et al., (2007). A expectativa inicial foi que a técnica AV apresentasse uma taxa de isolamento igual ou superior à técnica BV, dado seu maior volume e potencial de sensibilidade. Contudo, esses achados indicam que variáveis como condições de coleta e preparo das amostras podem ter influenciado negativamente a eficiência de ambas as técnicas, particularmente a AV.

Fatores como o tipo de cultura, onde neste estudo foi realizado um método tradicional, e meios utilizados para as culturas microbiológicas, que favoreceram microrganismos aeróbicos, podem ter limitado a capacidade de detecção de bactérias, pois favoreceram um tipo específico, não sendo possível afirmar que não existam outros tipos. Outro ponto foi que, neste estudo, ambas as amostras foram recuperadas por dois profissionais diferentes e em sua rotina de trabalho a campo, diferente de um estudo controlado. Além disso, houve diferença nos perfis hormonais dos dois lavados, onde o grupo AV estava no diestro e o BV era realizado no estro. Trabalhos recentes, como os de Heil *et al.* (2019), Holyoak *et al.* (2022) e Silva *et al.* (2024), relatam que a fase do ciclo estral pode influenciar na microbiota encontrada naquele momento.

Os dados indicam que a presença de embrião no grupo AV foi associada a 8 das 13 culturas bacterianas positivas, um valor superior ao descrito por Pérez-Marin et al., (2018), que encontraram 12 culturas positivas provenientes de amostras obtidas de solução RL dos filtros de embrião utilizados, mas somente 6 (50%) apresentaram presença de embrião. Entretanto, observou-se uma tendência estatística de menor presença bacteriana no grupo AV, alinhada com a presença de embrião. Esse achado é

consistente com a hipótese de que a técnica AV associada com a técnica de lavado uterino para recuperação embrionária pode ser usada como alternativa para cultura microbiológica. Além disso, a presença de embrião no AV não alterou significativamente a ocorrência de bactérias no grupo BV, reforçando a ideia de que outros fatores podem desempenhar um papel mais relevante no crescimento bacteriano.

A predominância de *Escherichia coli* como a bactéria de maior incidência neste estudo e responsável por 3 (5,35%) das citologias positivas, confirma o que Weber *et al.* (2021) descrevem, de que estas bactérias não induzem resposta inflamatória e recrutamento de neutrófilos. A outra citologia positiva encontrada, caracterizada pela presença de neutrófilos, foi atribuída a uma bactéria não identificada, destacando a necessidade de exames mais detalhados. Além disso, o único animal do grupo BV com citologia positiva apresentou lavado com aspecto turvo e presença de conteúdo purulento, associando-se ao isolamento de duas bactérias diferentes, possivelmente cepas patogênicas, reforçando o impacto da interação bacteriana no desenvolvimento de endometrite. Esses achados ressaltam a complexidade das infecções bacterianas uterinas e a importância de identificar a diversidade de cepas para uma abordagem diagnóstica mais precisa.

Previamente, acreditava-se que o útero da égua era estéril; entretanto, hoje existem estudos mostrando que o aparelho reprodutor da fêmea possui uma microbiota própria (Heil *et al.* 2019; Holyoak *et al.* 2022). Dessa forma, identificar as bactérias uterinas torna-se essencial para diferenciar patógenos da microbiota. Conforme citado anteriormente, 38 bactérias diferentes foram isoladas neste estudo, mas não se pode afirmar que são todas patogênicas, devido à baixa ocorrência de citologia positiva, ao aspecto do líquido recuperado com características de endometrite e, principalmente, à ausência de exames como PCR e sequenciamento.

Os resultados indicam uma prevalência significativa de resistência a múltiplas classes de antimicrobianos entre as 38 bactérias estudadas, com quase metade (47,36%) resistentes a pelo menos três classes diferentes. Esse achado destaca a necessidade de monitoramento contínuo e estratégias de controle rigorosas para combater a disseminação de bactérias multirresistentes na reprodução. A ausência de diferença estatística significativa entre os grupos AV e BV sugere que fatores além do ambiente ou manejo podem influenciar a resistência bacteriana, o que pode ser preocupante no futuro. A alta

sensibilidade à Amicacina (92,10%) e à Enrofloxacina (86,84%) indica que esses antibióticos ainda são eficazes, possivelmente devido ao seu uso menos frequente. Por outro lado, a baixa sensibilidade à Penicilina (21,05%) sugere uma resistência bem estabelecida, provavelmente devido ao uso extensivo ao longo dos anos.

Quando comparadas a outros métodos para obtenção de amostras para cultura microbiológica, as técnicas de lavados uterinos são mais eficazes que as técnicas que utilizam swabs intrauterinos e têm contato com pontos focais do endométrio (RAVAIOLI et al., (2022)). Portanto, as informações apresentadas neste trabalho ressaltam a importância de um isolamento bacteriano eficaz; entretanto, esse dado, por si só, não pode servir como diagnóstico de endometrite. É indispensável associá-lo a sinais clínicos, histórico reprodutivo do animal e, quando necessário, a outros exames complementares, a fim de estabelecer um tratamento adequado contra cepas bacterianas patogênicas e prevenir o aumento da resistência a diferentes antimicrobianos.

O AV se mostrou uma técnica promissora, mas ainda é necessário aperfeiçoamentos, como a técnica de identificação no laboratório, testar outras soluções para realizar o lavado uterino, e em estudos futuros avaliar a capacidade de patogenicidade das bactérias.

6. Conclusão

Como conclusão, podemos afirmar que a técnica de lavado uterino com alto volume, associada ao procedimento de recuperação embrionária, se apresenta como uma alternativa viável para o isolamento bacteriano em exames microbiológicos. Além disso, não encontramos associação entre a presença ou ausência de embrião e a influência no crescimento bacteriano nas culturas. Outro ponto importante são que as bactérias isoladas demonstraram multirresistência, o que pode representar um desafio significativo para a equideocultura no futuro.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, W. R.; WILSHER, S.** Historical aspects of equine embryo transfer. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2020. Vol. 89. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.102987>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- BRINSKO, S.; RIGBY, S. L.; VARNER, D. D.; BLANCHARD, T. L.** Equine infectious endometritis: Clinical and subclinical cases. *Proc. Am Assoc. Equine Practice*, 2003. Vol. 49, p. 363-365. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2014.12.002>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- BROOK, D.** Uterine cytology. *Equine Reproduction*, 1993. p. 246–254.
- BUCZKOWSKA, J.; KOZDROWSKI, R.; NOWAK, M.; RAS, A.; STARONIEWICZ, Z.; SIEMIENIUCH, M.** Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2014. Vol. 2, p. 27. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-27>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- CADARIO, M. E.** Revisiting the diagnosis and the treatment options for an old problem: Chronic and post-breeding endometritis in the mare. *The Practitioner*, 2014. Vol. 1, p. 21-25.
- CANISSO, I. F.; SEGABINAZZI, L. G. T. M.; FEDORKA, C. E.** Persistent breeding-induced endometritis in mares—A multifaceted challenge: From clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. *International Journal of Molecular Science*, 2020. Vol. 21, n. 4, p. 1432. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21041432>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- CARD, C.** Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. *Theriogenology*, v. 64, p. 580–588, 2005
- CHRISTOFFERSEN, M.; TROEDSSON, M. H. T.** Inflammation and fertility in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*, 2017. Vol. 52, p. 14–20. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.13013>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- CHRISTOFFERSEN, M.; TROEDSSON, M. H. T.; WOODWARD, E. M.; LEHN-JENSEN, H.; BOJESSEN, A. M.; SQUIRES, E. L.; PETERSEN, M. R.** Effect of immunomodulatory therapy on the endometrial inflammatory response to induced infectious endometritis in susceptible mares. *Theriogenology*, 2012. Vol. 78, p. 991–1004.
- DASCANIO, J. J.** Uterine culture collection: swab/brush. In: DASCANIO, John J.; MCCUE, Patrick (Ed.). *Equine reproductive procedures*. 2. ed. Hoboken: Wiley, 2021. p. 49-51.
- D'AGOSTINO, A.; DI PALMA, T.; GUALANDI, C. S.; BONI, R.** Fluorescence spectroscopy for the diagnosis of endometritis in the mare. *Animals*, 2022. Vol. 12, n. 9, p. 1157. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani12091157>. Acesso em: 17 jan. 2025.

DIEL DE AMORIM, M.; GARTLEY, C. J.; FOSTER, R. A.; HILL, A.; SCHOLTZ, E. L.; HAYES, A.; CHENIER, T. S. Comparison of clinical signs, endometrial culture, endometrial cytology, uterine low-volume lavage, and uterine biopsy and combinations in the diagnosis of equine endometritis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2016. Vol. 44, p. 54-61. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.10.012>. Acesso em: 17 jan. 2025.

FERRIS, R. A.; BOHN, A.; McCUE, P. M. Equine endometrial cytology: Collection techniques and interpretation. *Equine Veterinary Education*, 2015. Vol. 27, p. 316–322.

FUMUSO, E.; GIGUÈRE, S.; WADE, J.; ROGAN, D.; VIDELA-DORNA, I.; BOWDEN, R. A. Endometrial IL-1 β , IL-6 and TNF- α , mRNA expression in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis: Effects of estrous cycle, artificial insemination and immunomodulation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2003. Vol. 96, p. 31–41.

HEIL, B. A.; PACCAMONTI, D. L.; SONES, J. L. Role for the mammalian female reproductive tract microbiome in pregnancy outcomes. *Physiological Genomics*, 2019. Vol. 51, p. 390–399. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00045.2019>. Acesso em: 17 jan. 2025.

HOLYOAK, G. R.; PREMATHILAKE, H. U.; LYMAN, C. C.; et al. The healthy equine uterus harbors a distinct core microbiome plus a rich and diverse microbiome that varies with geographical location. *Scientific Reports*, 2022. Vol. 12, p. 14790. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18971-6>. Acesso em: 17 jan. 2025.

KENNEY, R. M. Clinical aspects of endometrial biopsy in fertility evaluation of the mare. In: *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners*, v. 23, p. 105–122, 1977.

KENNEY, R. M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1978. Vol. 172, p. 241–262.

KATILA, T. Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. *Reproductive Biology*, 2016. Vol. 16, p. 189–196. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2016.06.002>. Acesso em: 17 jan. 2025.

LEBLANC, M. M. Persistent mating induced endometritis in the mare: Pathogenesis, diagnosis and treatment. In: BALL, B. A., ed. *Recent Advances in Equine Reproduction*. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2003.

LEBLANC, M. M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A. J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, 2007. Vol. 68, n. 3, p. 403-412. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.038>. Acesso em: 17 jan. 2025.

LEBLANC, M. M.; NEUWIRTH, L.; ASBURY, A. C.; TRAN, T.; MAURAGIS, D.; KLAPSTEIN, E. Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and

mares with recurrent endometritis. *Equine Veterinary Journal*, 1994. Vol. 26, p. 109–113.

LECTION, J.; WAGNER, B.; BYRON, M.; CHEONG, S. H.; MILLER, A.; DIEL DE AMORIM, M.; ROLLINS, A.; CHENIER, T. Inflammatory markers for differentiation of endometritis in the mare. *Equine Veterinary Journal*, 2024. v. 56, p. 678–687.

LEY, W. B.; DIGRASSIE, W. A.; HOLYOAK, G. R.; SLUSHER, S. H. Endometrium. In: COWELL, R. L.; TYLER, R. D. (ed.). *Diagnostic cytology and hematology of the horse*. 2. ed. St. Louis: Mosby, 2002. p. 180–186.

LOVE, C. C. Endometrial biopsy. In: MCKINNON, Angus O.; SQUIRES, Edward L.; VAALA, Wendy E.; VARNER, Dickson D., eds. *Equine Reproduction*. 2. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2011. p. 1929–1939.

MAISCHBERGER, E.; IRWIN, J. A.; CARRINGTON, S. D.; DUGGAN, V. E. Equine post-breeding endometritis: A review. *Irish Veterinary Journal*, 2008. Vol. 61, p. 163–168. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/2046-0481-61-3-163>. Acesso em: 17 jan. 2025.

MARINONE, A.I.; MUCCI, N.; KAISER, G.; LOSINNO, L.; ARMENDANO, J.; RODRIGUEZ, E.; MUTTO, A.; REDOLATTI, C.; CANTATORE, S.; HERRERA, M.F.; HERRERA, J.M.; FUMUSO, E. Reproductive Characteristics in Old and Young Subfertile Mares: Are They Really Different? *Journal of Equine Veterinary Science*, 2017. Vol. 55. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.02.012>

MORRIS, H. A. L.; McCUE, M. P.; AURICH, C. Equine endometritis: A review of challenges and new approaches. *Reproduction*, 2020. Vol. 160, n. 5, p. 95–110. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/REP-19-0478>. Acesso em: 17 jan. 2025.

NUNES, L. C. Expressão de metaloproteinases, TIMP-1 e da esclerose vascular nas endometrites crônicas das éguas. Botucatu, 2008. 84p. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

OLIVEIRA, M. H. C. de; SILVA, M. A. de A. H. da; JACOB, F. R. C.; OLIVEIRA, N. de M. S.; RUFINO, L. R. A.; ALMEIDA, A. C. O.; PENITENTE-FILHO, J. M.; MAITAN, P. P. Mare endometritis: A deepening in diagnostic methods, 2025. Disponível em: <https://ssrn.com/abstract=4907784>. Acesso em: 11 jan. 2025.

PASOLINI, M.P.; DEL PRETE, C.; FABBRI, S.; AULETTA, L. Endometritis and Infertility in the Mare – The Challenge in Equine Breeding Industry – A Review. *Genital Infections and Infertility*, 2016. <https://doi.org/10.5772/62461>

PÉREZ-MARÍN, C. C.; VIZUETE, G.; BORGE, C.; GALISTEO, J. J. Cytological and bacteriological sampling from filters used for embryo recovery to evaluate the uterine status of donor mares. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2018. Vol. 66, p. 462–473. Disponível em: <https://doi.org/10.1556/004.2018.041>. Acesso em: 17 jan. 2025.

SÁ, M. A. F.; LIMA, T. F. G.; MORAIS, R. C. L.; DUTRA, G. A.; JESUS, V. L. T.; JACOB, J. C. F. Endometrite aguda induzida por *Escherichia coli* em éguas avaliadas por ultrassonografia com Doppler colorido. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 72, n. 5, p. 1586-1598, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11904>. Acesso em: 17 jan. 2025.

RASMUSSEN, C.D.; PETERSEN, M.R.; BOJESSEN, A.M.; PEDERSEN, H.G.; LEHN-JENSEN, H.; CHRISTOFFERSEN, M. Equine infectious endometritis: clinical and subclinical cases. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2015. Vol. 35, p. 94-104. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2014.12.002>

RAVAIOLI, V.; RAFFINI, E.; TAMBURINI, M.; GALLETTI, G.; FRASNELLI, M. Infectious Endometritis in Mares: Microbiological Findings in Field Samples. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2022. Vol. 112. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.103913>

RIDDLE, W.T.; LEBLANC, M.M.; STROMBERG, A.J. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*, 2007. Vol. 68, p. 395-402. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.05.050>

SCOTT, C.J. A review of fungal endometritis in the mare. *Equine Veterinary Education*, 2020. Vol. 32, p. 444-448. <https://doi.org/10.1111/eve.13010>

SILVA, E. S. M. Tecnologia de embriões em equinos. In: LUZ, M. R.; CELEGHINI, E. C. C.; BRANDAO, F. Z. (Orgs.). Reprodução animal: Equinos. 1. ed. Barueri: Manole, 2024. p. 113-127.

SILVA, J. A.; CASTAÑARES, M.; MOUGUELAR, H. et al. Isolation of lactic acid bacteria from the reproductive tract of mares as potentially beneficial strains to prevent equine endometritis. *Veterinary Research Communications*, v. 48, p. 1353–1366, 2024. DOI: 10.1007/s11259-024-10295-2.

SQUIRES, E.L. Embryo transfer challenges and perspectives. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 2013. Vol. 37, p. 105–107.

WEBER, K.S.; WAGENER, K.; BLANCO, M.; BAUERSACHS, S.; BOLLWEIN, H. A comparative analysis of the intrauterine transcriptome in fertile and subfertile mares using cytobrush sampling. *BMC Genomics*, 2021. Vol. 22. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07701-3>